

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 18 SEP 2003
WIPO PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 103 30 409.6
Anmeldetag: 04. Juli 2003
Anmelder/Inhaber: november Aktiengesellschaft Gesellschaft
für Molekulare Medizin, Erlangen/DE
Bezeichnung: Verwendung eines Einwegbehälters, mikro-
fluidische Vorrichtung und Verfahren zur
Bearbeitung von Molekülen
IPC: B 01 J, B 01 L

BEST AVAILABLE COPY

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 14. August 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Hintermeier

Verwendung eines Einwegbehälters, mikrofluidische Vorrichtung
und Verfahren zur Bearbeitung von Molekülen

Die Erfindung betrifft eine Verwendung des Einwegbehälters,
5 eine mikrofluidische Vorrichtung sowie ein Verfahren zur Be-
arbeitung von Molekülen.

Nach dem Stand der Technik sind allgemein Analyseautomaten
zur Durchführung chemischer und biochemischer Reaktionen be-
kannt. Dabei werden für die Reaktion notwendige Lösungen mit-
10 tels einer Saugpumpe aus einem Vorratsbehälter entnommen und
einem Probenraum zugeführt. Daneben sind auch automatische
Analysevorrichtungen bekannt, bei denen zur Reaktion erfor-
derliche Lösungen beispielsweise mittels einer Kolbenpumpe
15 zugeführt werden. - Bei den bekannten Vorrichtungen kann es
nachteiligerweise zu einer Verschmutzung der Lösungen kommen.
Die erforderlichen Lösungen sind in der Regel in einem be-
stimmten Volumen vorzulegen. Insoweit besteht die Gefahr ei-
nes nicht exakten Abfüllens durch den Anwender. Automatische
20 Analysevorrichtungen müssen nach jeder Analyse sorgfältig ge-
reinigt werden. Das ist zeitaufwändig. Abgesehen davon kann
es auch bei einer sorgfältigen Reinigung dazu kommen, dass
ein Rückstand in der Vorrichtung verbleibt. Ein solcher Rück-
stand führt zur Verfälschung von Ergebnissen bei später
25 durchgeführten Analysen.

Aus dem Bereich der Medizin sind z. B. aus der DE 33 90 336
T1 Einwegspritzen bekannt. Solche Einwegspritzen werden z. T.
befüllt vorgehalten. Ein in einem Zylinder geführter Kolben
30 ist so ausgeführt, dass die im Zylinder aufgenommene Flüssig-
keit manuell mittels des Kolbens herausgedrückt werden kann.

Aus dem medizinischen Bereich sind des Weiteren Ampullen zur Aufnahme flüssiger Medikamente bekannt. Solche Medikamente können beispielsweise mittels einer Spritze injiziert werden. Die Abfüllung eines exakten Volumens im μl -Bereich ist damit

5 nicht möglich.

Nach dem Stand der Technik sind des Weiteren so genannte mikrofluidische Vorrichtungen zum Nachweis vorgegebener biochemischer Moleküle bekannt. Solche Vorrichtungen arbeiten mit

10 geringen Volumina. Damit ist ein Nachweis biochemischer Moleküle, z. B. von DNA, möglich. Eine solche Vorrichtung ist beispielsweise aus der EP 0 397 424 A2 oder der EP 0 189 316 B1 bekannt.

15 Aufgabe der Erfindung ist es, die Nachteile nach dem Stand der Technik zu beseitigen. Es sollen insbesondere eine Verwendung, eine mikrofluidische Vorrichtung und ein Verfahren angegeben werden, welche eine vereinfachte und möglichst genaue automatisierte Durchführung einer Probenvorbereitung zur

20 Durchführung chemischer Nachweisreaktionen und/oder chemische Nachweisreaktionen ermöglichen. Insbesondere soll eine vereinfachte automatisierte Vorbereitung von Proben zum Nachweis biochemischer Moleküle, wie DNA, ermöglicht werden.

25 Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der Ansprüche 1, 18 und 32 gelöst. Zweckmäßige Ausgestaltungen ergeben sich aus den Merkmalen der Ansprüche 2 bis 17, 19 bis 31 und 32 bis 38.

Nach Maßgabe der Erfindung ist die Verwendung eines Einwegbehälters vorgesehen, welcher einen Zylinder mit einem darin

30 verschiebbar geführten Kolben und einen an einem dem Kolben gegenüberliegenden ersten Ende des Zylinders vorgesehen Anschluss aufweist, zur Erzeugung einer Druckdifferenz in einer

mikrofluidischen Vorrichtung und zur Aufnahme eines Mittels zur Bearbeitung von Molekülen und/oder als Reaktionsgefäß.

Ein solcher Einwegbehälter kann kostengünstig hergestellt werden. Er kann mittels geeigneter Automaten exakt mit einem vorgegebenen Volumen befüllt werden. Dabei kann der Befüllvorgang so geführt werden, dass eine Kontamination ausgeschlossen ist. Der Einwegbehälter kann nicht nur als Vorratsbehälter für das Mittel zur Bearbeitung von Molekülen dienen, sondern auch als Reaktionsgefäß. Dazu kann z. B. zunächst ein Mittel zur Bearbeitung von Molekülen in eine mikrofluidische Vorrichtung und anschließend aus der mikrofluidischen Vorrichtung wieder eine Lösung in den Einwegbehälter gedrückt oder gesaugt werden. Die Einwegbehälter sind leicht handhabbar. Ein Betrieb mikrofluidischer Vorrichtungen ist damit schnell, einfach und leicht durchführbar.

Nach einer Ausgestaltung ist vorgesehen, dass das Mittel zur Bearbeitung eine Flüssigkeit, ein Gel oder ein Feststoff oder eine Kombination daraus ist. Der Feststoff kann zumindest einen der folgenden Bestandteile umfassen: lösliche oder suspendierbare Partikel, Lyophilisat, chromatografisches Material, vorzugsweise einen Ionentauscher oder eine Affinitätsmatrix. Das Mittel zur Bearbeitung kann aber auch der folgenden Gruppe ausgewählt sein: Lyseflüssigkeit, Elutionsflüssigkeit, Pufferlösung, magnetische beads.

Die vorgeschlagenen Einwegbehälter werden vorzugsweise als Kit bereitgehalten. Sie können beispielsweise zum Aufschluss von Zellen erforderliche Lösungen sowie Adsorptionsmittel für DNA enthalten. Vorteilhafterweise sind die Einwegbehälter je nach Art des darin vorgelegten Mittels zur Bearbeitung von Molekülen beispielsweise in ihrem Durchmesser oder in ihrer

Länge unterschiedlich ausgebildet. Damit kann verhindert werden, dass ein Einwegbehälter versehentlich an einen nicht korrekten Anschluss eines mikrofluidischen Systems angeschlossen wird. Eine Aufnahme des mikrofluidischen Systems 5 ist in diesem Fall so ausgeführt, dass darin nur der jeweils korrekte Einwegbehälter einsetzbar ist. Selbstverständlich ist es auch möglich, zur Vermeidung von Verwechslungen einen entsprechenden Aufdruck oder eine Farbgebung auf dem Einwegbehälter vorzusehen.

10

Zweckmäßigerweise ist der Einwegbehälter mit dem Mittel zur Bearbeitung vollständig gefüllt. Es sind insbesondere keine Luftblasen enthalten. Damit wird die Haltbarkeit des im Einwegbehälter aufgenommenen Mittels zur Bearbeitung erhöht.

15

Der Kolben kann aus einem elastischen Werkstoff, vorzugsweise aus Gummi oder Kunststoff, hergestellt sein. Er kann zumindest eine umlaufende im Querschnitt symmetrische Dichtung aufweisen. Das ermöglicht ein wiederholtes Hin- und Herschieben des Kolbens, wobei jederzeit eine vollständige Dichtwirkung gewährleistet ist.

Nach einer weiteren Ausgestaltung ist der Kolben korrespondierend zum Anschluss ausgebildet, so dass bei am ersten Ende 25 anliegendem Kolben eine vollständige Entleerung des Zylinders und ggf. des Anschlusses möglich ist. Das ermöglicht eine besonders exakte Verfahrensführung; es bleiben keinerlei Restvolumina im Einwegbehälter zurück. Sofern der Anschluss ein Volumen aufweist, wird auch eine Entleerung dieses Volumens 30 gewährleistet.

Nach einer weiteren Ausgestaltung weist der Kolben ein Mittel zum Eingriff eines Schub- und/oder Schleppmittels auf. Das

ermöglicht einen einfachen Anschluss des Einwegbehälters an eine Vorrichtung zum Bewegen des Kolbens. Bei dem Mittel zum Eingriff kann es sich um eine zentrisch im Kolben vorgesehene Ausnehmung, z. B. eine halbkugel- oder kegelförmige Ausnehmung, um ein Gewinde, einen Bajonett- oder einen Rastverschluss oder dgl. handeln. Es kann auch sein, dass am Kolben ein Schub- und/oder Schleppmittel angebracht ist. Es kann sich dabei um eine Stange oder einen Zylinder handeln. In diesem Fall weist das Schub- und/oder Schleppmittel am freien Ende ein Mittel zum Eingriff in eine Schub- und/oder Schleppvorrichtung auf. Bei dem Mittel zum Eingriff kann es sich um einen Durchbruch, um radial abstehende Fortsätze, einen Flansch oder dgl. handeln. Das Mittel zum Eingriff ist zweckmässigerweise so ausgeführt, dass es durch ein Einsticken eine Schub- und/oder Schleppstange einer Schub- und/oder Schleppvorrichtung verbunden werden kann.

Nach einer weiteren Ausgestaltung ist der Zylinder aus einem transparenten Material hergestellt. Das erlaubt eine einfache Sichtkontrolle. Es kann sofort festgestellt werden, ob der Zylinder beispielsweise korrekt, d. h. blasenfrei, gefüllt ist. Der Zylinder ist zweckmässigerweise aus einem elastischen Kunststoff, vorzugsweise Polypropylen, hergestellt. Auch Polyethylen oder Polycarbonat eignen sich zur Herstellung des Zylinders. Bei der Verwendung eines elastischen Materials wird eine besonders gute Dichtwirkung erreicht. Das verwendete Material ist vorteilhafterweise inert.

Nach einer weiteren Ausgestaltung ist der Anschluss mit einem Verschlussmittel verschlossen. Es kann sich bei dem Verschlussmittel um eine Gummi- oder Kunststoffmembran, eine Kugel, einen Kegel oder einen Verschluss-Zylinder handeln. Vorteilhafterweise sind die Kugel, der Kegel und/oder der Ver-

schluss-Zylinder aus einem inerten Kunststoff oder aus Glas hergestellt.

Nach einer weiteren besonders vorteilhaften Ausgestaltung ist
5 an einem dem Anschluss gegenüberliegenden zweiten Ende des
Zylinders ein radial nach innen vorspringender, eine Ver-
schiebung des Kolbens aus dem Zylinder blockierender Vor-
sprung vorgesehen. Damit wird eine Entfernung des Kolbens un-
möglich gemacht. Eine unerwünschte Manipulation des Einwegbe-
10 hälters wird vermieden.

Nach weiterer Maßgabe der Erfindung ist eine mikrofluidische
Vorrichtung zur Bearbeitung von Molekülen mit mindestens ei-
nem Kanal zur Beförderung einer Probe vorgesehen, wobei am
15 Kanal mindestens zwei Anschlussstücke zum Anschließen zweier
Einwegbehälter vorgesehen sind, wobei jeder der Einwegbehäl-
ter einen Zylinder mit einem darin verschiebbar geführten
Kolben und einen an einem dem Kolben gegenüberliegenden er-
sten Ende des Zylinders vorgesehenen Anschluss aufweist, und
20 wobei die Einwegbehälter mit dem daran vorgesehenen Anschluss
jeweils an einem der Anschlussstücke angeschlossen sind, so
dass durch Verschieben einer der Kolben Flüssigkeit durch den
Kanal beförderbar ist.

25 Die vorgeschlagene mikrofluidische Vorrichtung ist besonders
einfach ausgestaltet. Es kann auf die Verwendung von Mikro-
pumpen und dgl. verzichtet werden. Ein Druck zum Verschieben
der Flüssigkeit im Kanal der mikrofluidischen Vorrichtung
wird durch das Verschieben der Kolben erzeugt. Die Einwegbe-
30 hälter dienen nicht nur zur Bereitstellung von Mitteln zur
Bearbeitung von Molekülen, sondern auch als Reaktionsraum.
Indem mindestens zwei Einwegbehälter an die mikrofluidische
Vorrichtung angeschlossen werden, ist es möglich, durch Hin-

und Herbewegen einer Flüssigkeit zwischen den Einwegbehältern beispielsweise biologisches Material aufzureinigen oder aufzuschließen. Die vorgeschlagene mikrofluidische Vorrichtung ist überraschend einfach aufgebaut. Sie ist leicht handhabbar. Durch die Verwendung der vorgeschlagenen Einwegbehälter entfällt die Notwendigkeit des manuellen Vorlegens exakter Volumina beispielsweise von zur Durchführung von Reaktionen erforderlichen Flüssigkeiten. Eine Kontamination ist praktisch ausgeschlossen. Mit den vorgeschlagenen mikrofluidischen Vorrichtungen können schnell und zuverlässig exakte Ergebnisse erzielt werden.

Nach einer Ausgestaltung ist der Kanal ein Kanalsystem aus mehreren miteinander verbundenen Kanälen. Der Kanal oder das Kanalsystem kann einen mäanderförmigen Kanal und/oder eine mikrofluidische Mischkammer und/oder eine mikrofluidischen Reaktionsraum und/oder einen mikrofluidischen Detektionsraum aufweisen. Der Kanal kann einen Durchmesser von höchstens 2 mm, vorzugsweise weniger als 1,5 mm aufweisen. Ferner kann ein das Anschlussstück mit dem Kanal verbindender Verbindungskanal vorgesehen sein. Darüberhinaus kann eine mit dem Kanal verbundene, vorzugsweise mittels eines ersten Ventils, verschließbare Eingangsöffnung vorgesehen sein. Ferner kann eine mit dem Kanal verbundene, vorzugsweise mittels eines zweiten Ventils, verschließbare Ausgangsöffnung vorgesehen sein. Die vorgeschlagenen Ausgestaltungen des Kanals ermöglichen eine differenzierte und automatisierte Verfahrensführung. Die Anordnung und Ausgestaltung des Kanals sind zweckmäßigerweise so gewählt, dass die gewünschte Reaktion einfach und schnell durchführbar ist.

Vorteilhafterweise ist durch das Verschieben der Kolben Flüssigkeit in den anderen Einwegbehälter beförderbar. Dabei kann

der Kolben in anderen Einwegbehälter zurückgedrückt werden. Es kann aber auch sein, dass der Kolben im anderen Behälter durch eine Schleppstange zurückgezogen wird.

5 Bei einer besonders vorteilhaften Ausgestaltung weist jedes Anschlussstück eine Hohlnadel zum Öffnen eines den Anschluss verschließenden Verschlussmittels auf. Ferner kann jeder der Einwegbehälter einen zu den Anschlussstücken korrespondierenden Anschluss aufweisen. Das ermöglicht einen einfachen und

10 dichten Anschluss der Einwegbehälter am Anschlussstück. Eine Kontamination des im Einwegbehälter aufgenommenen Mittels zur Bearbeitung der Moleküle wird vermieden.

Vorteilhafterweise ist eine zum Außendurchmesser des Einwegbehälters korrespondierende, vorzugsweise zylindrische, Ausnehmung zum Führen des Anschlusses des Einwegbehälters in eine Eingriffsposition mit dem Anschlussstück vorgesehen. Das erleichtert das Anschließen des Einwegbehälters. Ein fehlerhafter, möglicherweise nicht ausreichend dichter Anschluss

20 wird verhindert.

Des Weiteren kann ein Mittel zum Halten des in die Ausnehmung vollständig eingeschobenen und in das Anschlussstück eingreifenden Einwegbehälters in einer fixierten Position vorgesehen

25 sein. Damit wird ein unerwünschtes Lösen des Anschlusses vom Anschlussstück verhindert. Bei dem Mittel zum Halten kann es sich beispielsweise um zumindest ein das zweite Ende des Einwegbehälters randlich umgreifendes Rastmittel handeln.

30 Nach weiterer Maßgabe der Erfindung ist ein Verfahren zur Bearbeitung von Molekülen mit folgende Schritten vorgesehen:

Bereitstellen mindestens zweier Einwegbehälter, von denen jeder einen Zylinder mit einem darin verschiebbar geführten Kolben und einen an einem dem Kolben gegenüberliegenden ersten Ende des Zylinders vorgesehenen Anschluss aufweist,

5

Bereitstellen einer mikrofluidischen Vorrichtung mit mindestens einem Kanal, wobei am Kanal mindestens zwei Anschlussstücke zum Anschließen der Einwegbehälter vorgesehen sind,

10 Anschließen der Einwegbehälter mit den daran vorgesehenen Anschlüssen an den Anschlussstücken,

Verschieben eines der Kolben, so dass eine Flüssigkeit in dem Kanal befördert wird.

15

Das vorgeschlagene Verfahren ermöglicht eine besonders einfache Bearbeitung von Molekülen. Der Druck zur Bewegung bzw. Beförderung der Flüssigkeit im Kanal der mikrofluidischen Vorrichtung wird durch Verschieben der Kolben in den Einwegbehältern erzeugt. Auf diese Weise kann die Flüssigkeit einfach von einem Ort an den anderen in der mikrofluidischen Vorrichtung befördert werden. Es sind insbesondere keine Mikropumpen, Ventile und dgl. erforderlich.

25 Zweckmäßigerweise ist die Flüssigkeit in einem der Einwegbehälter enthalten. Die mikrofluidische Vorrichtung kann in diesem Fall als weiteres Einwegteil vorgehalten werden. Die Flüssigkeit kann von einem in den anderen Behälter befördert werden. Beim Befüllen eines der Einwegbehälter wird zweckmäßig der darin aufgenommene Kolben durch den Flüssigkeitsdruck verschoben. In diesem Fall ist es nicht erforderlich, den Kolben mittels einer besonderen Schleppvorrichtung zu schleppen, um die Flüssigkeit in den Einwegbehälter zu be-

fördern. Durch Verschieben eines der Kolben kann eine im Kanal befindliche Flüssigkeit in einen vorgegebenen Abschnitt des Kanals verschoben werden. Das Verschieben der Kolben ermöglicht eine exakte Verschiebung der Flüssigkeit. Die Flüssigkeit kann nach einem vorgegebenen Programm an bestimmten Stellen des Kanals bearbeitet werden. Der vorgegebene Abschnitt des Kanals kann zu diesem Zweck einen mäanderförmigen Kanal und/oder mikrofluidischen Detektionsraum aufweisen. Zur Steuerung der Bewegung der Flüssigkeit im Kanal können ferner mindestens ein darin vorgesehenes Ventil gemäß einem vorgegebenen Programm geöffnet und/oder geschlossen werden. Nach dem vorgegebenen Programm erfolgen auch die Bewegungen der Kolben, so dass die Flüssigkeit im Kanal bzw. in den Einwegbehältern gemäß vorgegebenen Reaktionsschritten bewegt wird.

15

Nachfolgend werden Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

20 Fig. 1 eine schematische Schnittsansicht eines ersten Einwegbehälters,

25 Fig. 2 eine schematische Teilschnittansicht einer ersten mikrofluidischen Vorrichtung,

30 Fig. 3 die Teilschnittansicht nach Fig. 2 mit eingesetztem Einwegbehälter,

35 Fig. 4 die Teilschnittansicht gemäß Fig. 3 mit Schubstange,

40 Fig. 5 die Teilschnittansicht gemäß Fig. 4 mit teilweise eingedrücktem Kolben,

Fig. 6 eine schematische Schnittansicht eines zweiten Einwegbehälters,

Fig. 7 eine schematische Schnittansicht einer mikrofluidischen Vorrichtung mit dem zweiten Einwegbehälter gemäß Fig. 6,

Fig. 8 die Anordnung gemäß Fig. 7, wobei der zweite Einwegbehälter an der mikrofluidischen Vorrichtung angeschlossen ist,

Fig. 9 die Anordnung gemäß Fig. 8, wobei weitere Einwegbehälter angeschlossen sind,

Fig. 10 die Anordnung gemäß Fig. 9, wobei ein Probenbehälter angeschlossen ist,

Fig. 11 die Anordnung gemäß Fig. 10, wobei der Probenbehälter entleert worden ist und

Fig. 12 die Anordnung gemäß Fig. 11, wobei der zweite Einwegbehälter entleert worden ist.

Fig. 1 zeigt eine schematische Querschnittsansicht eines ersten Einwegbehälters. In einem zweckmäßigerweise aus einem transparenten Kunststoff, beispielsweise Polyethylen oder Polypropylen, hergestellten Zylinder 1 ist verschiebbar ein, z. B. aus Kunststoff oder Gummi hergestellter Kolben 2 verschiebbar geführt. An einem dem Kolben 2 gegenüberliegenden ersten Ende E1 des Zylinders ist ein Anschluss 3 vorgesehen. Der Anschluss 3 ist mit einem Verschlussmittel 4, hier beispielsweise in Form einer Glaskugel, verschlossen. In dem durch den Zylinder 1 und den darin befindlichen Kolben 2 ge-

bildeten Volumen ist eine Flüssigkeit F aufgenommen. Es kann sich dabei beispielsweise um eine Lyseflüssigkeit, eine Elutionsflüssigkeit, eine Pufferlösung oder dgl. handeln. Der Kolben 2 ist an seiner dem ersten Ende E1 des Zylinders 1 zu-
5 gewandten Seite korrespondierend zum ersten Ende E1 des Zy-
linders 1 ausgebildet. Er weist insbesondere einen zur Aus-
formung des Anschlusses 3 korrespondierenden Vorsprung 5 auf.
Sofern der Kolben 2 vollständig bis an das erste Ende E1 ge-
drückt wird, erfüllt der Vorsprung 5 den Anschluss 3, so dass
10 eine vollständige Entleerung der Flüssigkeit F aus dem Zylin-
der 1 und dem durch den Anschluss 3 gebildeten Volumen mög-
lich ist. An der dem Vorsprung 5 gegenüberliegenden Seite des
Kolbens 2 kann eine zentrische Ausnehmung, ein zentraler
Vorsprung oder dgl. zum Eingriff einer Schub- und/oder
15 Schleppstange vorgesehen ist. Ein dem ersten Ende E1 gegen-
überliegendes zweites Ende des Zylinders 1 ist mit dem Be-
zugszeichen E2 bezeichnet.

Fig. 2 zeigt eine Teilquerschnittsansicht einer mikrofluidi-
20 schen Vorrichtung, und zwar eine Aufnahme 6 für den in Fig. 1
gezeigten Einwegbehälter. Die Aufnahme 6 weist eine dem
Durchmesser des Zylinders 1 korrespondierende zylindrische
Ausnehmung 7 auf. Die Ausnehmung 7 ist so ausgeführt, dass
darin der Einwegbehälter einschiebbar ist. Der Anschluss 3
25 wird dabei so geführt, dass er korrekt in eine Eingriffsposi-
tion eines Anschlussstücks 8 gelangt. Das Anschlussstück 8
kann eine Hohlnadel 9 umfassen, mit welcher das Verschluss-
mittel 4 durchstoßen oder in den Zylinder 1 gedrückt und da-
mit eine Verbindung des Zylinders 1 mit der mikrofluidischen
30 Vorrichtung erreicht wird.

Fig. 3 zeigt den unter Verwendung der Aufnahme 6 am An-
schlussstück 8 angeschlossenen Einwegbehälter. Zum Überführen

der Flüssigkeit F kann mittels einer Schubstange 10 der Kolben 2 in Richtung des Anschlussstücks 8 gedrückt werden. Diese Situation ist in den Fig. 4 und 5 gezeigt.

5 Fig. 6 zeigt im Querschnitt einen zweiten Einwegbehälter. Der Zylinder 1 weist am zweiten Ende E2 ein radial nach innen weisendes Rückhaltemittel 11 auf. Mit dem Rückhaltemittel 11 wird ein Verschieben des Kolbens 2 über das zweite Ende E2 hinaus verhindert. Der Kolben 2 weist an seiner dem Anschluss 3 abgewandten Seite ein Eingriffsmittel 12 zum Anschluss an eine Schub- und/oder Schleppstange auf. Das Eingriffsmittel 12 kann - wie hier gezeigt ist - beispielsweise in Form eines Stempels ausgeführt sein. Selbstverständlich sind auch andere geeignete Ausgestaltungen möglich. Das Verschlussmittel 4 ist 5 im vorliegenden Ausführungsbeispiel als Membran ausgeführt. Es kann sich dabei um eine Kunststoff- und Gummimembran handeln. Zweckmäßigerweise handelt es sich um einen in einstückiger Ausbildung mit dem Zylinder 1 ausgebildeten Kunststofffilm. Der Zylinder 1 kann zusammen mit dem Kunststofffilm in 10 einem Stück beispielsweise mittels Spritzguss hergestellt werden. In der Flüssigkeit F können - wie in Fig. 6 gezeigt ist - Partikel P suspendiert sein.

Fig. 7 zeigt im Querschnitt eine mikrofluidische Vorrichtung 13, die mehrere weitere Anschlussstücke 14 aufweist. Die weiteren Anschlussstücke 14 sind mit einem weiteren Verschlussmittel 15 verschlossen, so dass eine Kontamination der mikrofluidischen Vorrichtung 13 ausgeschlossen ist. Jedes der weiteren Anschlussstücke 14 ist über einen Verbindungskanal 16 mit einem die Verbindungskanäle 16 verbindenden Kanal 17 verbunden. Der Kanal 17 ist ferner über ein erstes Ventil 18 mit einer Eingangsöffnung 19 und über ein zweites Ventil 20 mit einer Ausgangsöffnung 21 verbunden. Die Verbindungskanäle

16 und der Kanal 17 weisen zweckmäßigerweise einen Durchmes-
ser im Bereich von 1 bis 2 mm auf. Sie sind in eine aus
transparentem Kunststoff hergestellte Basisplatte 22 eingear-
beitet. Jedes der Anschlussstücke weist eine Hohlnadel 9 zum
5 Durchstoßen des Verschlussmittels 4 auf.

Fig. 8 zeigt die mikrofluidische Vorrichtung 13, wobei der
zweite Einwegbehälter mit dem Anschluss 3 an das weitere An-
schlussstück 14 angeschlossen ist. Die Hohlnadel 9 durch-
10 dringt den Anschluss 3, so dass eine dichte Verbindung herge-
stellt ist. Die Flüssigkeit F kann nunmehr durch die Hohlna-
del 9 in den Verbindungskanal 16 sowie in den Kanal 17 durch
Verschieben des Kolbens 2 in Richtung des Anschlusses 3 be-
wegt werden.

15 Fig. 9 zeigt eine Querschnittsansicht der mikrofluidischen
Vorrichtung 13 gemäß Fig. 8, wobei hier an sämtlichen weite-
ren Anschlussstücken 14 zweite Einwegbehälter angeschlossen
sind. Wie aus Fig. 9 ersichtlich ist, kann der Durchmesser
20 der zweiten Einwegbehälter unterschiedlich ausgeführt sein.
Damit können ggf. an der mikrofluidischen Vorrichtung 13 vor-
gesehene Aufnahmen 7 so ausgeführt werden, dass jeweils nur
bestimmte Einwegbehälter darin einsetzbar sind. So kann eine
Fehlbedienung durch Anschließen eines Einwegbehälters an ein
25 falsches weiteres Anschlussstück 14 verhindert werden. Die in
Fig. 9 gezeigten weiteren Einwegbehälter sind im Übrigen
identisch mit dem zweiten Einwegbehälter.

Fig. 10 zeigt die mikrofluidische Vorrichtung 13 gemäß Fig.
30 9, wobei hier an die Eingangsöffnung 19 eine Spritze 23 ange-
schlossen ist, in welcher Probenflüssigkeit PF aufgenommen
ist. Mittels der Spritze 23 kann die Probenflüssigkeit PF
beispielsweise in den gegenüberliegenden zweiten Einwegbehäl-

ter gedrückt werden. Dazu ist es erforderlich, das erste Ventil 20 zu öffnen und einen weiteren Kolben 24 eines weiteren Einwegbehälters 25 niedergedrückt zu halten. In diesem Fall wird die Probenflüssigkeit PF über den Verbindungskanal 16 in den der Spritze 23 gegenüberliegenden Einwegbehälter gedrückt. Durch den aufgebrachten Druck wird ein darin befindlicher Kolben verschoben (siehe Fig. 11).

10 Anschließend kann die überführte Probenflüssigkeit PF beispielsweise durch Niederdrücken des Kolbens 2 mit der im Zylinder 1 enthaltenen Flüssigkeit F gemischt werden. Dazu ist es erforderlich, den Kolben 2 niederzudrücken und wiederum den zweiten Kolben 24 in seiner Position festzuhalten, sowie das erste 18 und das zweite Ventil 20 geschlossen zu halten
15 (siehe Fig. 12).

20 Durch eine programmgesteuerte vorgegebene Bewegung der Kolben der Einwegbehälter kann die Probeflüssigkeit PF nacheinander mit mehreren unterschiedlichen Flüssigkeiten beaufschlagt werden. Sie kann intensiv mit den Flüssigkeiten gemischt werden. Es ist beispielsweise ein einfacher Aufschluss von in der Probenflüssigkeit PF enthaltenen Zellen möglich. Sobald die Zellen aufgeschlossen sind, können darin enthaltende DNA-Moleküle durch in den Einwegbehältern aufgenommenen Flüssigkeiten enthaltende magnetische beads abgetrennt und zur Analyse einem weiteren Nachweisverfahren zugeführt werden.
25

Bezugszeichenliste

1 Zylinder
2 Kolben
5 3 Anschluss
4 Verschlussmittel
5 Vorsprung
6 Aufnahme
7 Ausnehmung
10 8 Anschlussstück
9 Hohlnadel
10 Schubstange
11 Rückhaltemittel
12 Eingriffsmittel
15 13 mikrofluidische Vorrichtung
14 weiteres Anschlussstück
15 weiteres Verschlussmittel
16 Verbindungskanal
17 Kanal
20 18 erstes Ventil
19 Eingangsöffnung
20 zweites Ventil
21 Ausgangsöffnung
22 Basisplatte
25 23 Spritze
24 weiterer Kolben
25 weiterer Einwegbehälter

F Flüssigkeit
30 P Partikel
PF Probenflüssigkeit

Patentansprüche

1. Verwendung eines Einwegbehälters, welcher einen Zylinder (1) mit einem darin verschiebbar geführten Kolben (2, 24) und 5 einen an einem dem Kolben (2, 24) gegenüberliegenden ersten Ende (E1) des Zylinders (1) vorgesehenen Anschluss (3) aufweist, zur Erzeugung einer Druckdifferenz in einer mikrofluidischen Vorrichtung (13) und zur Aufnahme eines Mittels (F, P) zur Bearbeitung von Molekülen und/oder als Reaktionsgefäß.

10

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Mittel (F, P) zur Bearbeitung eine Flüssigkeit, ein Gel oder ein Feststoff oder eine Kombination daraus ist.

15 3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Feststoff zumindest einen der folgenden Bestandteile umfasst: lösliche oder suspendierbare Partikel, Lyophilisat, chromatografisches Material, vorzugsweise einen Ionentauscher oder eine Affinitätsmatrix.

20

4. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Mittel (F, P) zur Bearbeitung aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Lyseflüssigkeit, Elutionsflüssigkeit, Pufferlösung, magnetische beads.

25

5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Einwegbehälter mit dem Mittel zur Bearbeitung vollständig gefüllt ist.

30

6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Kolben (2, 24) aus einem elastischen Werkstoff, vorzugsweise aus Gummi oder Kunststoff, hergestellt ist.

7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Kolben (2, 24) zumindest eine umlaufende im Querschnitt symmetrische Dichtung aufweist.

5 8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Kolben (2, 24) korrespondierend zum Anschluss (3) ausgebildet ist, so dass bei am ersten Ende (E1) anliegendem Kolben (2, 24) eine vollständige Entleerung des Zylinders (1) und ggf. des Anschlusses (3) möglich ist.

10 9. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Kolben (2, 24) ein Mittel (12) zum Eingriff eines Schub- und/oder Schleppmittels aufweist.

15 10. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei am Kolben ein Schub- und/oder Schleppmittel (10) angebracht ist.

20 11. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wo bei das Schub- und/oder Schleppmittel (10) am freien Ende ein Mittel zum Eingriff in eine Schub- und/oder Schleppvorrichtung aufweist.

25 12. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wo bei der Zylinder (1) aus einem transparenten Material hergestellt ist.

30 13. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wo bei der Zylinder (1) aus einem elastischen Kunststoff, vorzugsweise Polypropylen, hergestellt ist.

14. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Anschluss (3) mit einem Verschlussmittel (4) verschlossen ist.

5 15. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Verschlussmittel (4) eine Gummi- oder Kunststoffmembran, eine Kugel, einen Kegel oder ein Verschluss-Zylinder ist.

10 16. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Kugel, der Kegel und/oder der Verschluss-Zylinder aus einem inerten Kunststoff oder aus Glas hergestellt sind.

15 17. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei an einem dem Anschluss (3) gegenüberliegenden zweiten Ende (E2) des Zylinders (1) ein radial nach innen vorspringender, eine Verschiebung des Kolbens (2, 24) aus dem Zylinder (1) blockierender Vorsprung (11) vorgesehen ist.

20 18. Mikrofluidische Vorrichtung zur Bearbeitung von Molekülen mit mindestens einem Kanal (16, 17) zur Beförderung einer Probe (PF),

25 wobei am Kanal (16, 17) mindestens zwei Anschlussstücke (14) zum Anschließen zweier Einwegbehälter vorgesehen sind,

wobei jeder der Einwegbehälter einen Zylinder (1) mit einem darin verschiebbar geführten Kolben (2, 24) und einen an einem dem Kolben (2, 24) gegenüberliegenden ersten Ende (E1) des Zylinders (1) vorgesehenen Anschluss (3) aufweist, und

wobei die Einwegbehälter mit dem daran vorgesehenen Anschluss (3) jeweils an einem der Anschlussstücke (8, 14) angeschlos-

sen sind, so dass durch Verschieben einer der Kolben (2, 24) Flüssigkeit (F) durch den Kanal (16, 17) beförderbar ist.

19. Vorrichtung nach Anspruch 18, wobei der Kanal (16, 17) ein Kanalsystem aus mehreren miteinander verbundenen Kanälen ist.

20. Vorrichtung nach Anspruch 18 oder 19, wobei der Kanal (16, 17) oder das Kanalsystem einen mäanderförmigen Kanal und/oder eine mikrofluidische Mischkammer und/oder einen mikrofluidischen Reaktionsraum und/oder einen mikrofluidischen Detektionsraum aufweist.

21. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 20, wobei der Kanal (16, 17) einen Durchmesser von höchsten 2 mm, vorzugsweise weniger als 1,5 mm, aufweist

22. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 21, wobei der Kanal (16, 17) zumindest ein aus der folgenden Gruppe ausgewähltes Mittel aufweist: Sensoren, Elektroden, Heizdrähte, Siebe, Filter, Membranen.

23. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 22, wobei ein das Anschlussstück (8, 14) mit dem Kanal (17) verbindender Verbindungskanal (16) vorgesehen ist.

24. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 23, wobei eine mit dem Kanal (17) verbundene, vorzugsweise mittels eines ersten Ventils (18), verschließbare Eingangsöffnung (19) vorgesehen ist.

25. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 24, wobei eine mit dem Kanal (18) verbundene, vorzugsweise mittels ei-

nes zweiten Ventils (20), verschließbare Ausgangsöffnung (21) vorgesehen ist.

26. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 25, wobei 5 durch das Verschieben eines der Kolben (2, 24) Flüssigkeit (F) in den anderen Einwegbehälter beförderbar ist.

27. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 26, wobei jedes Anschlussstück (14) eine Hohlnadel (9) zum Öffnen eines 10 Anschluss (3) verschließenden Verschlussmittels (4) aufweist.

28. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 27, wobei jeder der Einwegbehälter einen zu den Anschlussstücken (14) 15 korrespondierenden Anschluss (3) aufweist.

29. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 28, wobei eine zum Außendurchmesser des Einwegbehälters korrespondierende, vorzugsweise zylindrische, Ausnehmung (7) zum Führen des 20 Anschlusses (3) des Einwegbehälters in eine Eingriffsposition mit dem Anschlussstück (8, 14) vorgesehen ist.

30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 29, wobei ein Mittel zum Halten des in die Ausnehmung (7) vollständig 25 eingeschobenen und in das Anschlussstück (8, 14) eingreifenden Einwegbehälters in einer fixierten Position vorgesehen ist.

31. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 30, wobei 30 das Mittel zu Halten zumindest ein das zweite Ende (E2) des Einwegbehälters randlich umgreifendes Rastmittel ist.

32. Verfahren zur Bearbeitung von Molekülen mit folgenden Schritten:

Bereitstellen mindestens zweier Einwegbehälter, von denen jeder einen Zylinder (1) mit einem darin verschiebbar geführten Kolben (2, 24) und einen an einem dem Kolben (2, 24) gegenüberliegenden ersten Ende (E1) des Zylinders (1) vorgesehenen Anschluss (3) aufweist,

10. Bereitstellen einer mikrofluidischen Vorrichtung (13) mit mindestens einem Kanal (16, 17), wobei am Kanal (16, 17) mindestens zwei Anschlussstücke (8, 14) zum Anschließen der Einwegbehälter vorgesehen sind,

15. Anschließen der Einwegbehälter mit den daran vorgesehenen Anschlüssen (3) an den Anschlussstücken (8, 14),

Verschieben eines der Kolben (2, 24), so dass eine Flüssigkeit (F) in dem Kanal (16, 17) befördert wird.

20. 33. Verfahren nach Anspruch 32, wobei die Flüssigkeit (F) in einem der Einwegbehälter enthalten ist.

25. 34. Verfahren nach Anspruch 32 oder 33, wobei die Flüssigkeit (F) vom einen in den anderen Behälter befördert wird.

30. 35. Verfahren nach einem der Ansprüche 32 bis 34, wobei beim Befüllen eines der Einwegbehälter der darin aufgenommene Kolben (2, 24) durch den Flüssigkeitsdruck verschoben wird.

36. Verfahren nach einem der Ansprüche 32 bis 35, wobei durch Verschieben eines der Kolben (2, 24) eine im Kanal (16,

17) befindliche Flüssigkeit in einen vorgegebenen Abschnitt des Kanals (16, 17) verschoben wird.

37. Verfahren nach Anspruch 36, wobei der vorgegebene Abschnitt des Kanals (16, 17) einen mäanderförmiger Kanal und/oder eine mikrofluidische Mischkammer und/oder einen mikrofluidischen Reaktionsraum und/oder einen mikrofluidischen Detektionsraum aufweist.

10 38. Verfahren nach einem der Ansprüche 32 bis 37, wobei zur Steuerung der Bewegung der Flüssigkeit im Kanal (16, 17) mindestens ein darin vorgesehene Ventil (18, 20) gemäß einem vorgegebenen Programm geöffnet und/oder geschlossen wird.

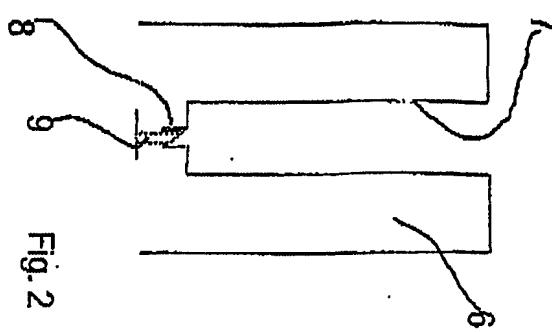


Fig. 2

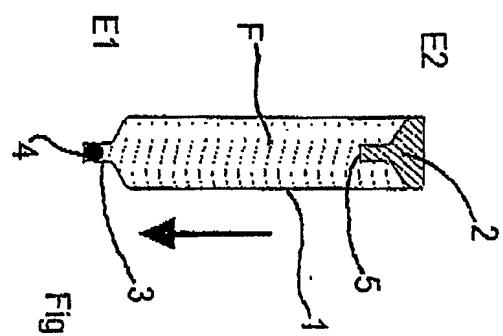


Fig. 1

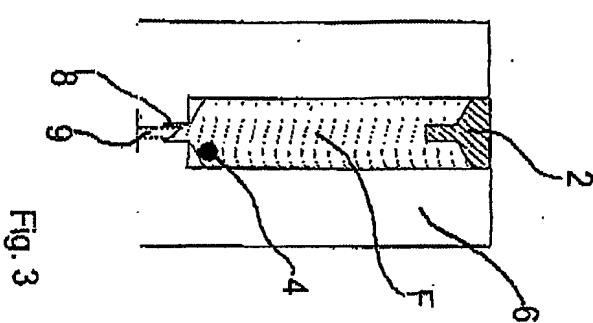


Fig. 3

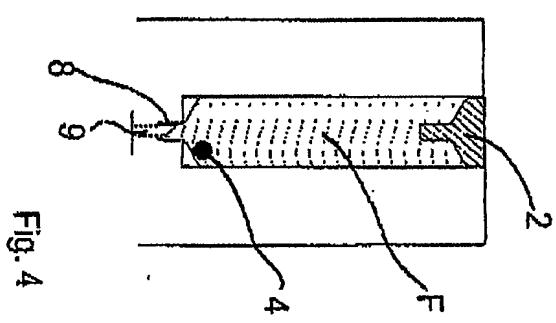


Fig. 4

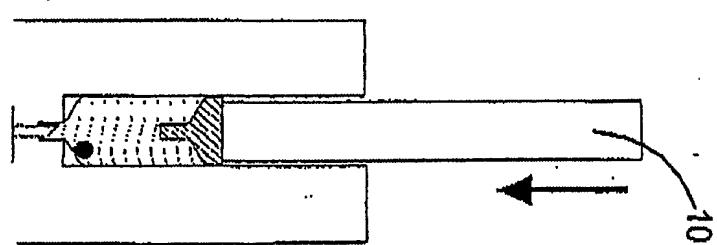
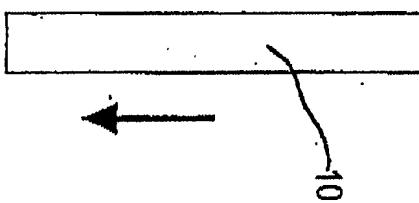
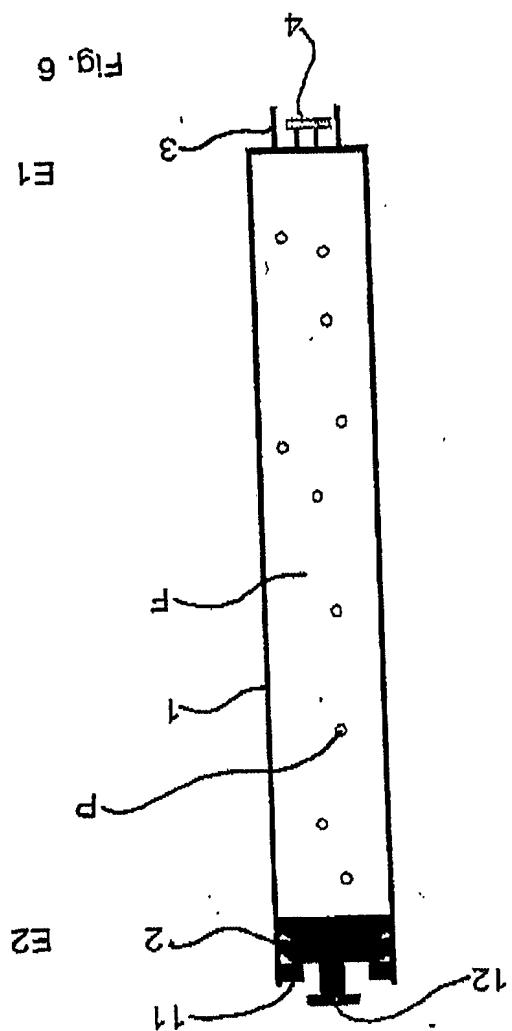


Fig. 5



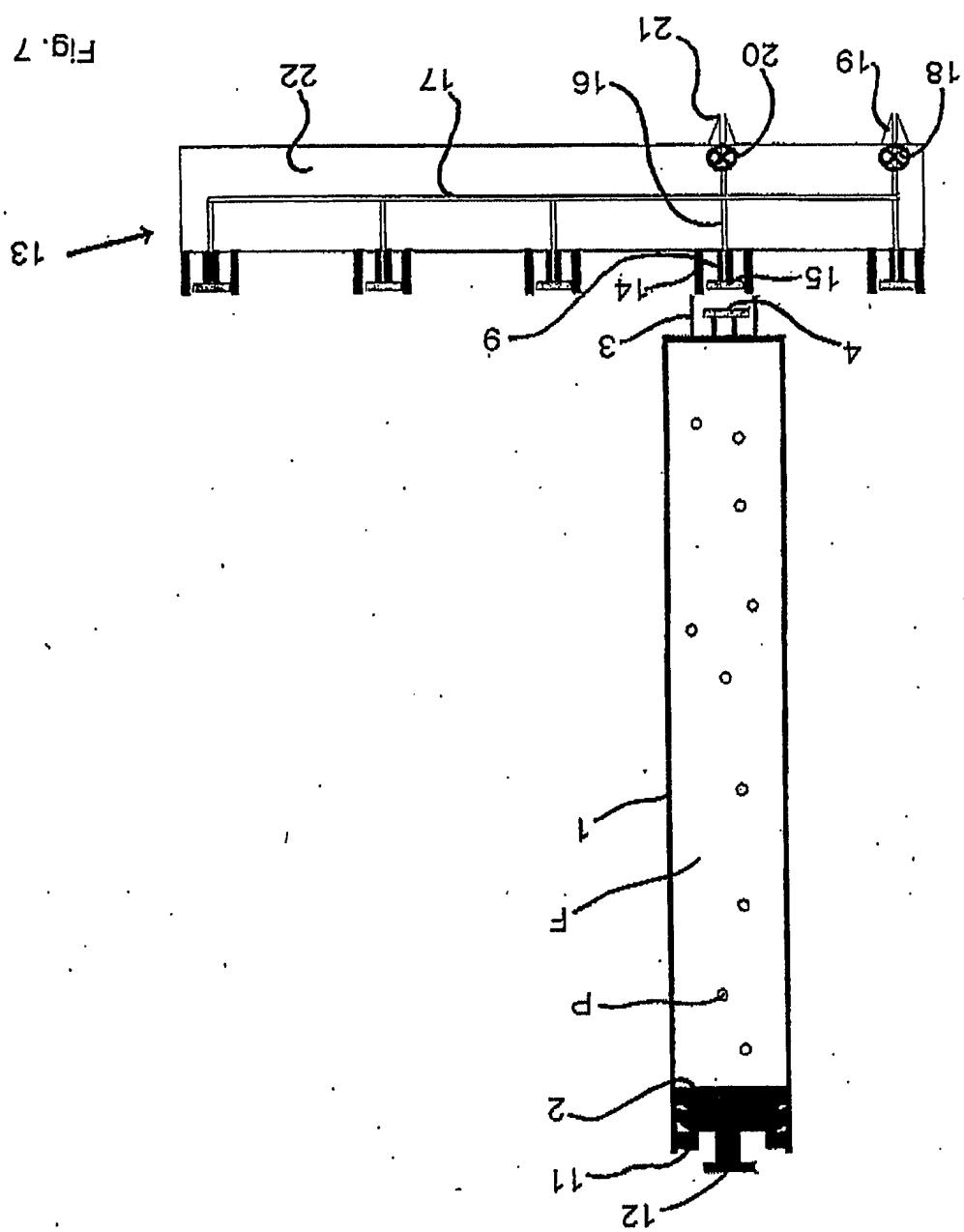


Fig. 8

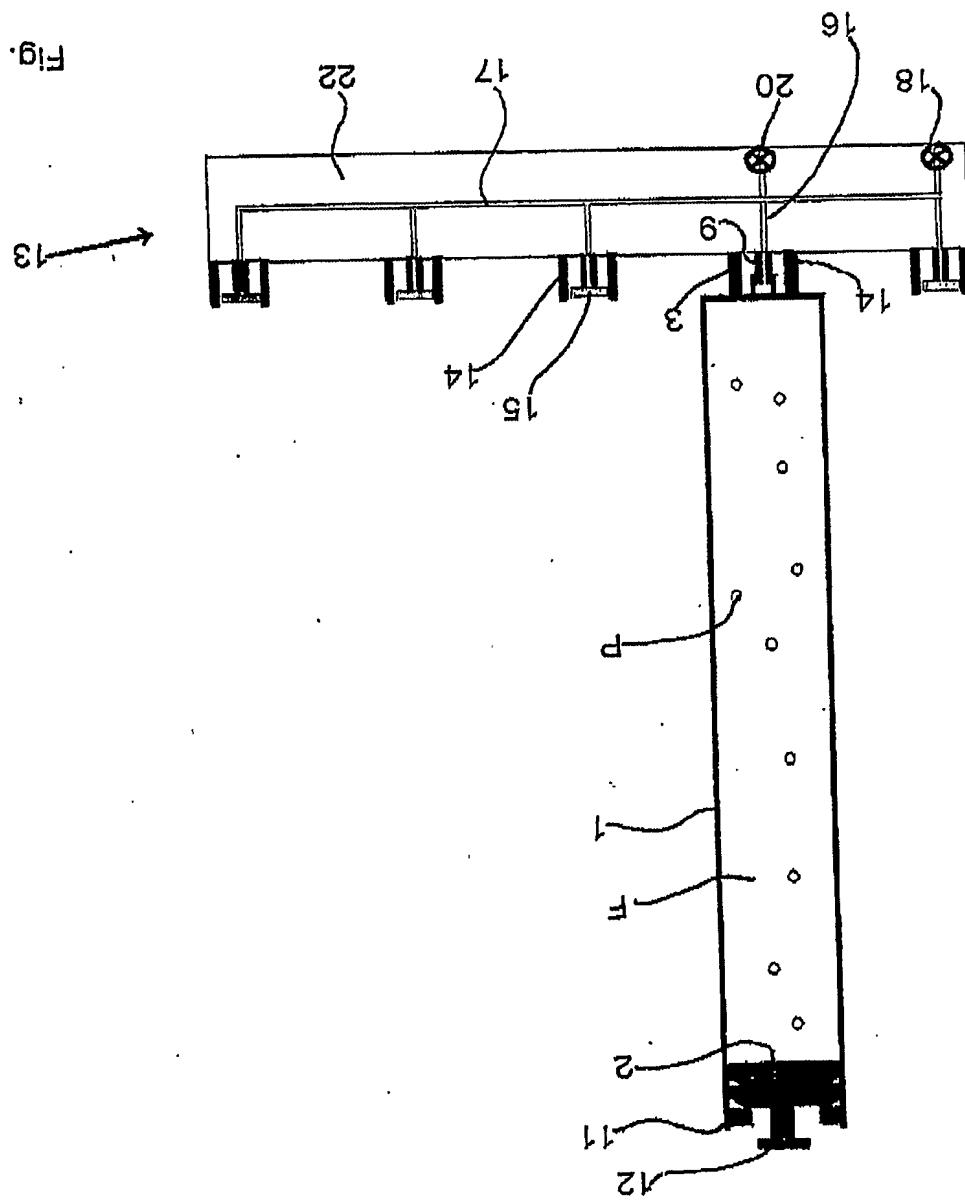


Fig. 9

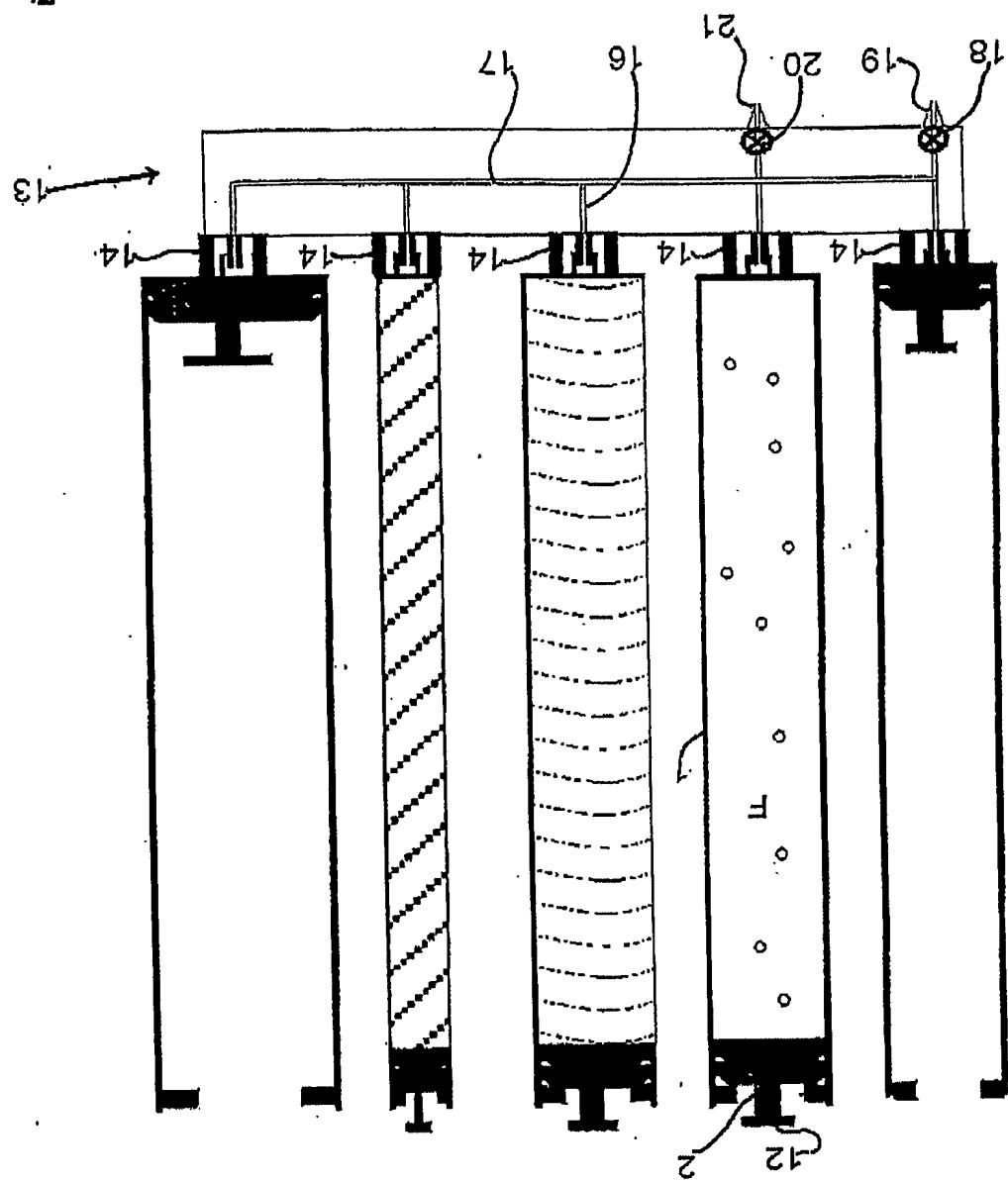


Fig. 10

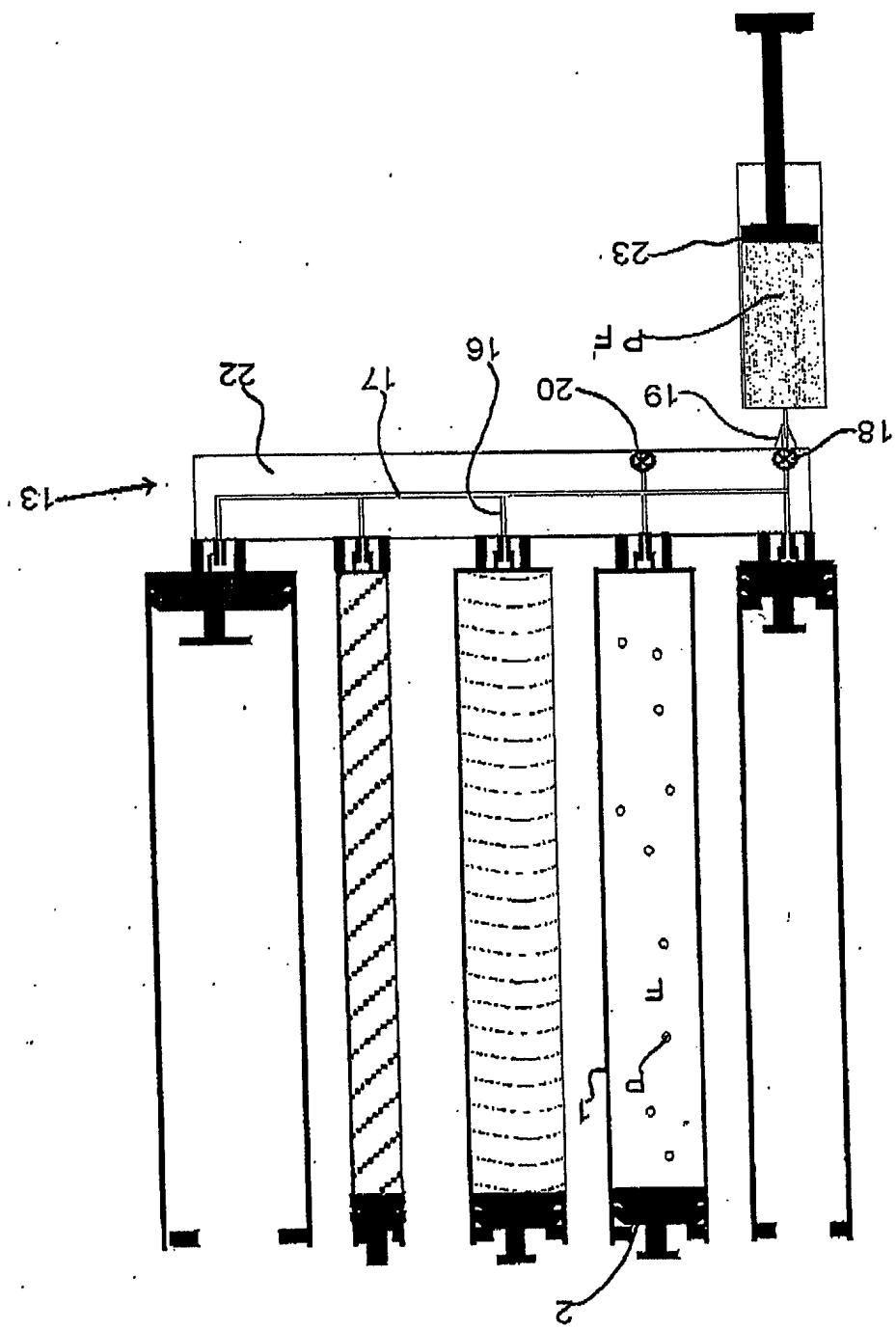


FIG. 11

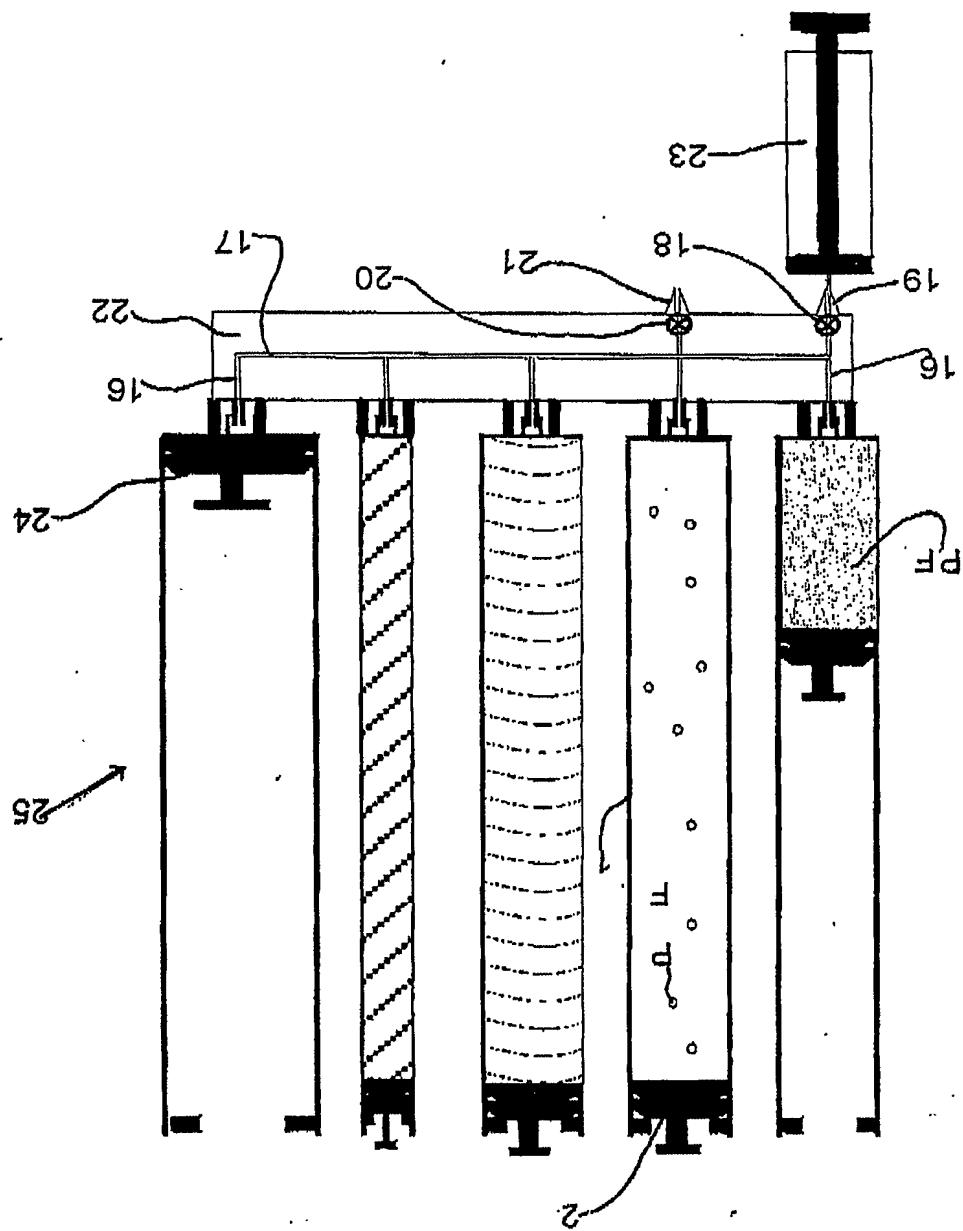
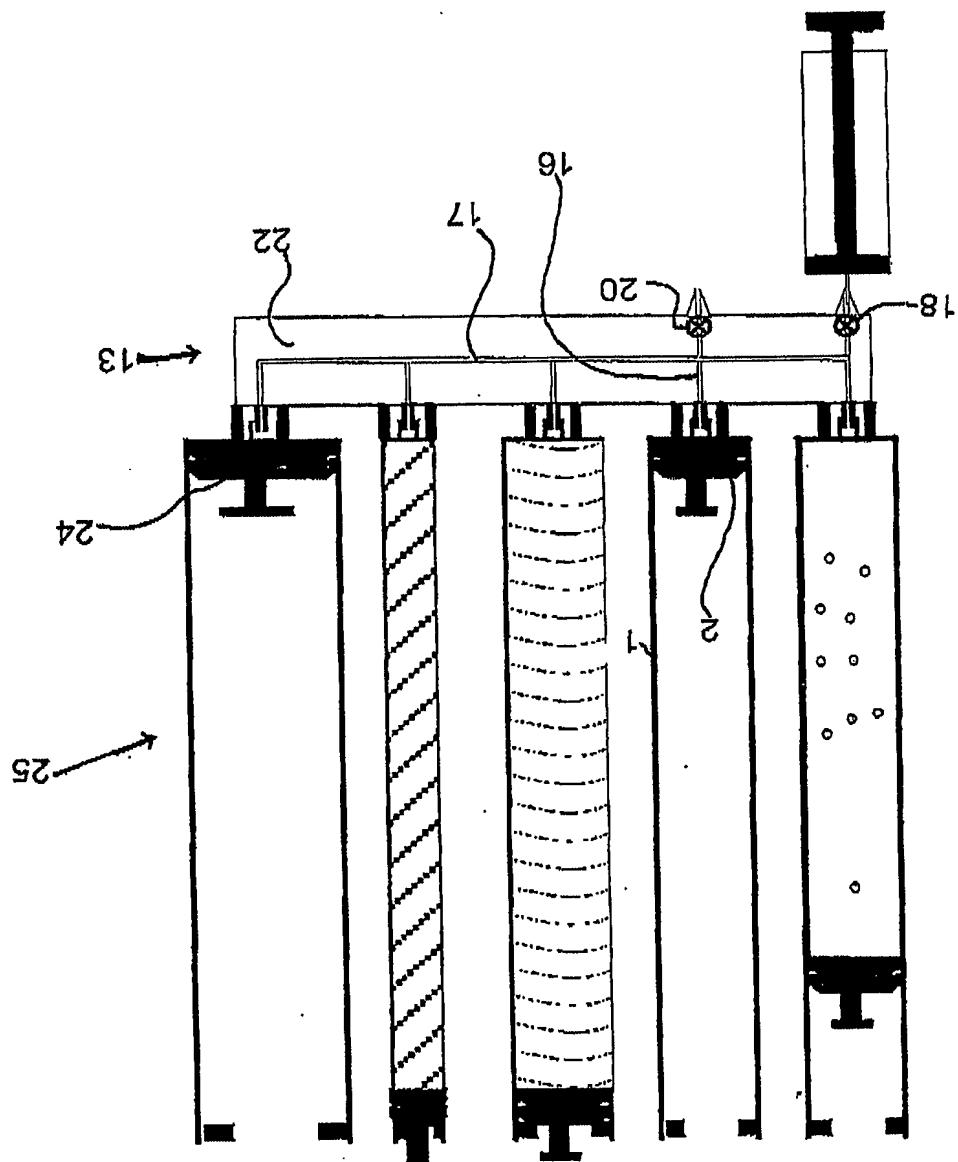


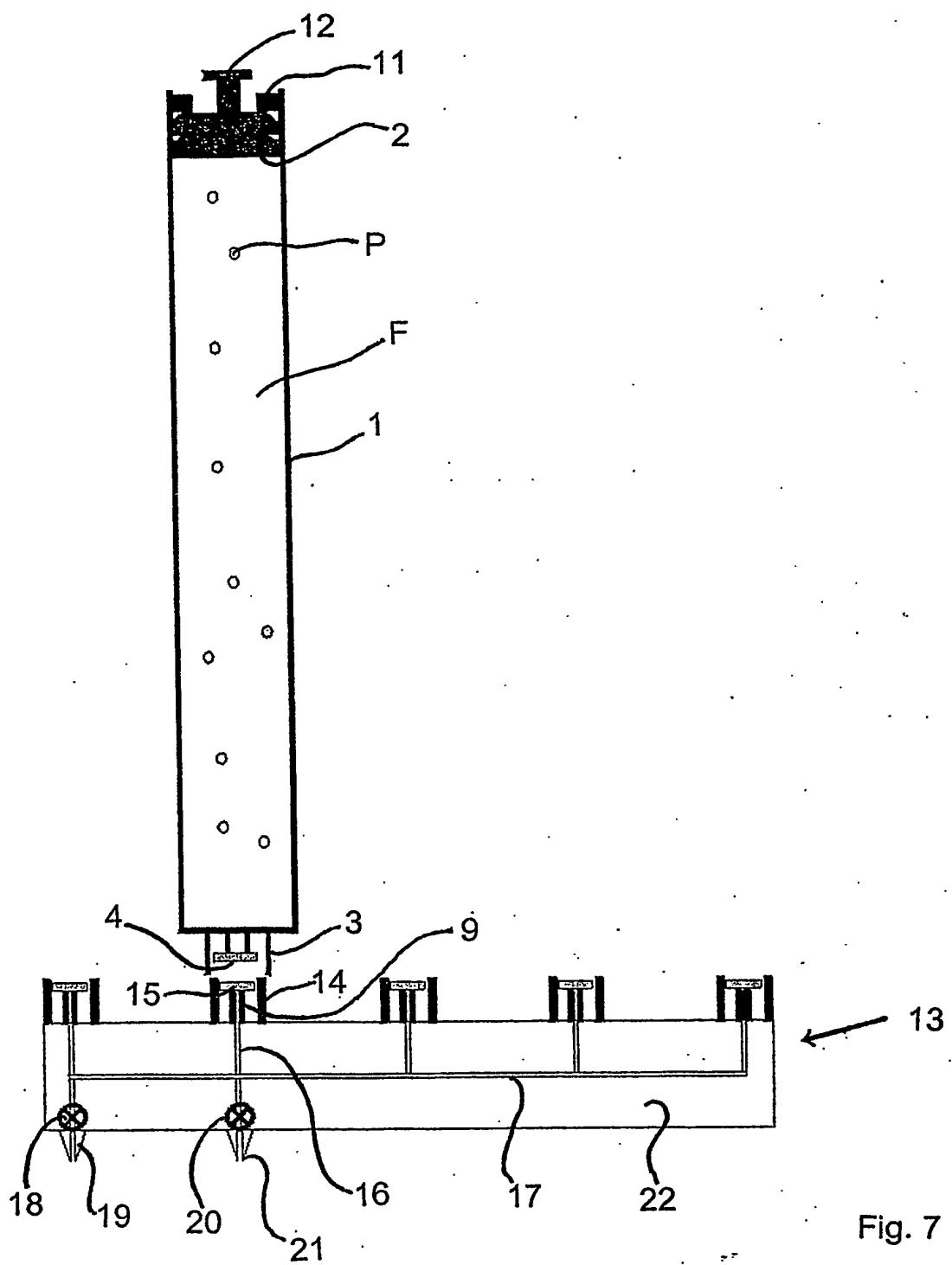
Fig. 12



Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Verwendung eines Einwegbehälters, welcher einen Zylinder (1) mit einem darin verschiebbar geführten Kolben (2, 24) und einem an einem dem Kolben (2, 24) gegenüberliegenden ersten Ende (E1) des Zylinders (1) vorgesehenen Anschluss (3) aufweist, zur Erzeugung einer Druckdifferenz in einer mikrofluidischen Vorrichtung (13) und zur Aufnahme eines Mittels (F, P) zur Bearbeitung von Molekülen und/oder als Reaktionsgefäß.

Fig. 7



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.